Zur Frage der Pneumokokkendiagnose, unter besonderer Berücksichtigung der Löslichkeit der Pneumokokken in Gallen und gallensauren Salzen.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt a. M.

vorgelegt von
JOHANN WILHELM OSTER
aus Frankfurt a. M.-Höchst

FRANKFURT AM MAIN
1942

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zu Frankfurt a. M.

Referent: Dozent Dr. Kemkes

Dekan: Prof. Dr. Dr. Guthmann

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

Zur Frage der Pneumokokkendiagnose, unter besonderer Berücksichtigung der Löslichkeit der Pneumokokken in Gallen und gallensauren Salzen.

Wenn man sich die morphologische Beschaffenheit des Pneumokokkus, der auch als Diplokokkus lanceolatus, Diplokokkus pneumoniae, früher auch als Streptokokkus lanceolatus oder Bakterium pneumoniae bezeichnet wurde, etwas näher betrachtet, so fällt immer wieder die lanzettförmige Gestalt dieses kleinen Kokkus ins Auge. Seine Diagnose bereitet dennoch vielerlei Schwierigkeiten, denn die Gestalt sowie die Größe dieses kleinen Kokkus ist keineswegs eine Konstante. Die Abweichungen von der normalen Form und Größe sind oft sogar recht beträchtlich, so daß man garnicht selten auf Pneumokokken mit runden oder ovalen Kokkenformen trifft. Eine charakteristische und typische Eigenart der Kokken ist es, daß sie sich in der Kultur auf künstlichen Nährböden, wie auch im Tierkörper als Doppelkokken anordnen, d. h. jeweils zwei an den Enden zugespitzte oder ovale Einzelkokken sind zu zweien aneinandergereiht. Dies ist jedoch nicht unbedingt nötig, denn der Pneumokokkus kann auch als einzelner Kokkus oder in kürzeren oder längeren Ketten vorkommen. So trifft man sogar sehr oft Ketten, die 4—6 Glieder enthalten können, in denen aber der Doppelkokkencharakter des Keimes stets vorhanden ist. Diese längeren Ketten der Pneumokokken weisen in bezug auf die Streptokokken bereits eine Eigenart auf, da sich ihre Ketten durch eine besondere Starrheit auszeichnen. Die paarweise gelagerten Kokken werden stets von einer Hülle umgeben, die man als Kapsel bezeichnet und welche auch häufig bei dem Kettenwachstum der Pneumokokken anzutreffen ist. Diese Kapsel, die das Kokkenpaar einschließt, kann sehr breit sein und ist scharf markiert. Der Nachweis von Kapseln bei gewissen Streptokokkenformen ist bisher einwandfrei noch nicht erbracht worden, da es sich stets nur um Andeutungen von Kapseln handelte. In den Kettenformen der Pneumokokken sind die Kapseln zusammenhängend mit hier und da schwachen Andeutungen einer Trennung, an deren Stelle nur selten eine echte Durchtrennung tritt. Die Kapselbildung ist jedoch keineswegs ein absolut sicheres Merkmal der Pneumokokken, denn besonders in Kulturen werden sie häufig vermißt. Während sich die Pneumokokken mit allen gebräuchlichen Farblösungen gut färben lassen,

nach Gram nicht entfärbt werden, also grampositiv sind, bleibt die Kapsel bei der gewöhnlichen Färbung mit Anilinfarbstoff ungefärbt. Allerdings gelingt es mit Hilfe der Kapselfärbung oder der Negativdarstellung der Kapsel leicht, diese sichtbar zu machen.

Der Pneumokokkus gehört zu den kulturell anspruchsvollen Keimen, so daß man bei seiner Züchtung auf die Beschaffenheit der Nährböden, ihre Zusammensetzung und ihre Reaktion ebenso zu achten hat, wie auf die Züchtungstemperatur und Dauer. Gewöhnlich findet man bei den Pneumokokken keine Bewegung, auch besitzen sie keine Geißeln. Ihre Vermehrung erfolgt durch Querteilung. Ein besonderes Merkmal des Pneumokokkus ist die Eigenschaft, daß er außerordentlich schnell seine Virulenz verliert. Ebenso gelingt die Umwandlung virulenter in avirulente Pneumokokken leicht und gesetzmäßig. Den avirulenten Pneumokokken fehlt die Kapselbildung, und weiterhin unterscheiden sie sich nicht selten gegenüber den virulenten Pneumokokken in ihrem Aussehen und dem Verhalten ihrer Kolonien. Ferner geht mit dem Verlust der Virulenz die Typenspezifität verloren. Man hat zur Erhaltung der Virulenz und Konservierung der Pneumokokken viele Methoden ausgearbeitet, von denen die Exsiccatormethode sich wohl als die beste erwiesen hat. Aber auch in feuchtem Sputum bleibt der Pneumokokkus noch nach 11 Tagen lebensfähig. Hält man dasselbe Sputum bei 0^0 Celsius, so behält der Pneumokokkus seine Wachstumsfähigkeit durchschnittlich 35 Tage.

Bereits sehr früh hatte man erkannt, daß die Pneumokokken in serologisch verschiedenen Typen auftreten. Die deutschen Forscher Neufeld und Händel leisteten auf dem Gebiete der Typenspezifizierung der Pneumokokken besonders wichtige Vorarbeit, mußten es aber den Amerikanern überlassen, die auch heute noch anerkannte Einteilung der Pneumokokken in die serologisch verschiedenen Typen vorzunehmen. Danach teilt man die Pneumokokken auf in die serologischen Typen I, II und III, sowie in die Sammelgruppe X, auch als IV bezeichnet, die alle jene Typen umfaßt, die nicht zu I, II und III gehören. Diese durch Agglutination und Präcipitation festgestellten verschiedenen Typen sind als durchaus stabil zu bezeichnen und man kann sogar sagen, daß zwischen den einzelnen Pneumokokkentypen derart scharfe Unterschiede bestehen, wie man sie bisher

innerhalb keiner anderen Art von Bakterien kennt. Die Beständigkeit der einzelnen Typen sowie das serologisch einheitliche Verhalten kann man aber nur beobachten, wenn die Stämme unter optimalen Bedingungen aufbewahrt bezw. fortgezüchtet werden, denn sonst verlieren die Pneumokokken sehr leicht ihre spezifische Agglutinabilität. Ueber serologische Veränderungen, die typische Pneumokokken erleiden sollen, berichtet u. a. Yoshioka. Er fand serologische Veränderungen, wenn man die Pneumokokken unter Bedingungen hält, die zu einem Virulenzverlust führen, wie Oberflächenkulturen auf ungeeigneten Nährböden, Züchtung bei 39° C oder zu weitgehende Austrocknung im Exsiccator. Die Veränderungen, die sprunghaft und unregelmäßig auftreten, bestehen in weitgehender Verminderung der Agglutination mit homologen Sera und im Auftreten einer neuen Agglutination für heterologe Sera. Wie hieraus zu ersehen ist, ist also ein Typenumschlag durchaus möglich, und wie man weiter feststellte, kann dieser Typenumschlag in den verschiedensten Variationen auftreten. Berger und Engelmann stellten in dieser Richtung ihre Versuche an und kamen zu dem Schluß, daß selbst im Verlaufe menschlicher Infektionen Typenveränderungen vorkommen können. Die Erkenntnis der Pneumokokkenmodifikationen ist besonders für den Ablauf der Pneumonie von Bedeutung. Berger und Engelmann weisen darauf hin, daß die durch Streptokokken bedingten Mischinfektionen und Nachkrankheiten der Pneumonie sich in dem Sinne deuten lassen, daß dabei nicht immer an das Hinzutreten von neuen Keimen gedacht werden muß, sondern daß eine Modifizierung der ursprünglich vorhandenen Erreger vorliegen kann. Diese Untersuchungen bedürfen aber noch eingehender Nachprüfung, wenn sie allgemein anerkannt werden sollen.

Gegen die Einteilung der Pneumokokken in die Typen I, II, III und die Gruppe X wurden vielerlei Einwände gemacht. Aber alle diese Bedenken änderten nichts an der Tatsache, daß sich die von den amerikanischen Forschern eingeführte Einteilung immer mehr durchsetzte und auch heute allgemein anerkannt wird. So hatten Erfahrungen von Hintze ergeben, daß sich eine Trennung in 4 Gruppen oder Typen aus den Agglutinationsergebnissen nur sehr summarisch ablesen ließen, da überall Uebergänge zu sein schienen. Yoshioka hingegen folgerte aus seinen Arbeiten, daß zwischen den einzelnen Typen eine Rezep-

torengemeinschaft bestehen müsse, während Bürgers und Herz die Typen I—IV als feststehende Varietäten bezeichneten.

Eine ungeheure Bedeutung erlangte der Pneumokokkus durch sein überaus häufiges Auftreten. Fast ausschließlich findet man ihn in seiner typischen lanzettförmigen Gestalt mit der Kapsel in den Organsäften infizierter Tiere bezw. des Menschen. Auch bei sehr vielen Entzündungsprozessen des Organismus ist der Pneumokokkus beteiligt, und bei der Tuberkulose macht er nicht selten eine Mischinfektion. Nach Kolle und Hetsch gibt es kaum ein Körperorgan, in dem der Pneumokokkus nicht entzündungserregend wirken kann. Die überaus große Bedeutung der Pneumokokkeninfektionen geht aus Versuchen von Wámoscher hervor, der sich besonders mit der Ein-Zell-Kultur der Pneumokokken befaßte und dabei feststellte, daß bereits ein einzelner Pneumokokkus imstande ist, eine Maus zu töten.

Aber nicht nur im kranken Organismus findet man den Pneumokokkus, sondern er ist auch als häufiger Bewohner der Mundhöhle und des Nasen-Rachenraumes gesunder Menschen zu finden. Etwa die Hälfte aller Menschen sind Pneumokokkenträger. In vielen Fällen fand man ihn besonders im Winter im Halssekret normaler Individuen. Hier findet sich vor allem die Gruppe X, die ja auch als Erreger vieler primärer Infektionen der Meningitiden hinreichend bekannt ist.

Es ist wohl selbstverständlich, daß die Diagnose des Pneumokokkus als Erreger so zahlreicher Erkrankungen des Menschen besondere Beachtung verdient. Wie aber bereits erwähnt wurde, erleiden die Merkmale des Pneumokokkus unter den verschiedenen Bedingungen sehr schnell Schwankungen, da der Pneumokokkus ja zu den anspruchsvollen Keimen gehört und das Verhalten dieses Keimes äußerst labil ist. In Kulturen fortgezüchtet, verliert der Pneumokokkus sehr leicht seine typischen Eigenschaften und dies ist es auch, was die differentialdiagnostische Abgrenzung gegenüber anderen Keimen so außerordentlich erschwert. Handelt es sich um einen frisch isolierten, virulenten Pneumokokkus, so fällt dessen Unterscheidung von anderen Mikroorganismen meist nicht sehr schwer, denn durch seine kulturellen Merkmale sowie seine Pathogenität ist er gut charakterisiert. Hat der Pneumokokkus aber auch nur eine geringe Einbuße seiner typischen Eigenschaften erlitten, sei es durch

Alterung oder sonstige Eingriffe, so ist man bei seiner Differenzierung oft vor sehr schwierige Aufgaben gestellt. In erster Linie und für die Praxis auch am wichtigsten ist die Abgrenzung von den Streptokokken, die eine weitgehende Aehnlichkeit mit den Pneumokokken aufweisen können. Die Aehnlichkeit im Wachstum auf den üblichen Nährböden, die gemeinsame Eigenschaft der Nichtverflüssigung der Gelatine, die Möglichkeit der Kettenbildung beim Pneumokokkus und die Vorliebe mancher Streptokokkenstämme zur Annahme der Diplokokkenform sind ja hinreichend bekannt. Da die Pneumokokken und die Streptokokken viele ähnliche Krankheitsprozesse hervorzurufen in der Lage sind, und das Gebiet der Streptokokken- und Pneumokokkeninfektionen nächst der Tuberkulose die wichtigste Stelle unter den Infektionskrankheiten einnimmt, ist ihre gegenseitige sichere Abgrenzung von besonderer Bedeutung. Auch die praktische Medizin muß an dem Ausbau der bakteriologischen Diagnostik besonders interessiert sein, denn die spezielle Therapie dieser Erkrankungen, sei es Immun- oder Chemotherapie, fordert eine klare Diagnose.

Für die Klinik ist es weiterhin wichtig zu wissen, welcher Pneumokokkentyp vorliegt, denn für die Prognosestellung kommt diesem eine besondere Bedeutung zu. Ferner muß der Typus des Erregers umgehend festgestellt werden, wenn eine Serumtherapie durchgeführt werden soll. Die Erfolge der Serumtherapie sind bisher allerdings nicht sehr befriedigend, und es gibt viele Autoren, die diese Therapie als vollkommen zwecklos ablehnen.

Vielerlei Verfahren wurden ausgearbeitet, die eine sichere Diagnose des Pneumokokkus ermöglichen. Die wichtigsten sollen nun im folgenden zunächst kurz beschrieben werden.

Wie bereits eingangs erwähnt wurde, besitzt der Pneumokokkus ein ganz charakteristisches morphologisches Verhalten. So ist z. B. die Fähigkeit der Pneumokokken, im Tierkörper eine Kapsel zu bilden, ein differential-diagnostisch wichtiges Merkmal. Der Nachweis der Kapsel gelingt leicht durch das Tuschepräparat oder die Kapselfärbung. Ferner wurde schon auf das Kettenwachstum der Pneumokokken hingewiesen. Daß die Streptokokken ebenfalls die Eigenschaft der Kettenbildung haben, erschwert — wie ohne weiteres verständlich ist — die Unterscheidung dieser beiden Keime ganz besonders. Hier gibt

die Beschaffenheit der Ketten den Ausschlag, denn die von den Pneumokokken gebildeten Ketten zeichnen sich durch ihre besondere, oft sehr ausgeprägte Starrheit aus. Diese charakteristische Starrheit der Ketten beruht auf der länglichen Form der Einzelindividuen und darauf, daß der Diplokokkencharakter des Keimes auch in dem längeren Verbande deutlich gewahrt bleibt.

Diese morphologischen Unterscheidungsmerkmale haben zwar auch heute noch ihre besondere Bedeutung, aber man ist sich längst darüber im klaren, daß sie nur unter günstigen Bedingungen wahrzunehmen sind. So möchte ich nochmals erwähnen, daß die Form der einzelnen Kokken oft erheblich variiert, und daß die Kapselfärbung nicht immer gleich gut gelingt, so daß, wenn man sich allein auf diese Merkmale verlassen würde, eine Fehldiagnose sehr leicht möglich wäre, denn die Gestalt der Streptokokken ist nicht selten auch als oval anzutreffen, und unter gewissen Bedingungen hat man bei den Streptokokken im Tierkörper Andeutungen von Kapseln gefunden.

Sehr zahlreich sind die verschiedenen kulturellen Merkmale der Pneumokokken und Streptokokken, die differentialdiagnostisch verwertet werden. Schon sehr bald hatte man beobachtet, daß aus dem Wachstum auf Löffler-Serum ziemlich sichere Vermutungsschlüsse gezogen werden können, ob es sich um Pneumokokken oder Streptokokken handelt. Während das Wachstum der Pneumokokken auf Löffler-Serum feucht ist, die Kolonien isoliert sind und nach wenigen Tagen gewöhnlich verschwinden, wachsen die Streptokokken auf Löffler-Serum trocken, die Kolonien stehen sehr nahe beieinander und sind sehr klein, so daß man oft nur einen zusammenhängenden mattschimmernden Belag wahrnehmen kann. Oft aber sind die Kolonien der beiden Kokkenarten einander so ähnlich, daß man sie mit Sicherheit nicht unterscheiden kann. Bei einiger Uebung können jedoch gute Anhaltspunkte gewonnen werden, die differentialdiagnostisch zu verwerten sind.

Weiterhin benutzt man die starke Autolyse der Pneumokokken in flüssigen Nährböden und auf der Blutplatte, bei längerer Beobachtung, zur Differentialdiagnose. Im übrigen ist für Pneumokokken das fehlende oder doch nur sehr mangelhafte Wachstum auf Gelatine charakteristisch. Buerger stellte fest, daß Pneumokokken auf Gelatine erst nach langer Zeit bei 24° C

ohne Verflüssigung der Gelatine wachsen, allerdings wuchsen einige Stämme überhaupt nicht. In diesem Verhalten unterscheiden sich die virulenten Pneumokokken nicht von den avirulenten. Todd empfiehlt zur Unterscheidung und Reinzüchtung der verschiedenen Streptokokken- und Pneumokokkenarten den Neutrallaktosenährboden mit Zusatz von Rinderserum. Nach Wirth wurde Leberbouillon von Pneumokokken aller Typen diffus getrübt, und Penfold hat zur Abgrenzung von Pneumokokken und Streptokokken von anderen pathogenen Mikroorganismen einen Nährboden angegeben, der aus 18 ccm Agar und 1 ccm Pferdecitratblut + 0,5 ccm 1proz. Benzidinlösung besteht. Die Pneumokokken und Streptokokken sollen auf diesem Nährboden durch Oxadation der Aminokörper ein Pigment bilden, was ihre Unterscheidung von anderen Mikroorganismen leicht ermöglicht. E. Fränkel [1]) empfiehlt den Lachmusnutroseagar und schreibt wörtlich: „Während nämlich der Diplokokkus lanceolatus auf diesem Nährboden äußerst kümmerlich gedeiht, so daß sich im Bereich der Impfstelle nur ein mattglänzender, die schöne blaue Farbe des Nährmediums nicht beeinflussender dünner Belag bildet, wächst der Streptokokkus viridans auf demselben in sehr üppiger, grauweißer Schicht, unter gleichzeitiger intensiver Rotfärbung des Agar."

Eine ganze Reihe kultureller Merkmale hat Bieling bei seinen Versuchen festgestellt. So beobachtete er, daß Pneumokokken und grüne Streptokokken mit gelbgrüner Färbung auf Kochbutagar wuchsen, das Wachstum der hämolytischen Streptokokken dagegen farblos war. In gleicher Weise verhielt sich der Hämoglobinagar. Für die Abgrenzung der grünwachsenden Streptokokken des Mitiortypes von den Pneumokokken empfiehlt Bieling einen Blutwasseragar aus 2 Teilen Blut und 1 Teil Aqua destillata, gemischt mit gleichen Teilen Agar + 2 % Dextrose. Auf diesem Nährboden soll der hämolytische Streptokokkus leicht abstreifbar, der Viridans trocken und nicht abstreifbar, die Pneumokokken in großen, im Ganzen abhebbaren Kolonien wachsen. Setzt man dem Nährboden noch Optochin hinzu (1 ccm 1%ige zu 300 ccm Nährboden), so bleibt das Wachstum der Streptokokken unverändert, während Pneumokokken nicht mehr angehen.

---

[1]) S. Lit. Verz. Nr. 22 und 23.

Schottmüller beobachtete, daß die Pneumokokken auf Blutagar saftig und mit intensiver Farbstoffbildung wuchsen und daß sich im Innern des Nährbodens die Kolonien sehr rasch entwickelten. Alle diese Eigenschaften zeigten die Streptokokken in viel geringerem Grade. Die Angabe Schottmüllers, das Wachstum der Pneumokokken-Kolonien auf Blutagar sei grün, muß wohl dahingehend abgeändert werden, daß man die Farbe der Kolonien als dunkelbraun oder rötlich bezeichnet. Die Kolonien werden allerdings von einer Zone der unvollkommenen Hämolyse umgeben, die grünlich erscheint.

Nach Stolygvos Meinung ist die Entfärbung erhitzten Blutes ein genaues und zuverlässiges Mittel zur Differenzierung der Streptokokken. Außerdem erscheint der erhitzte Blutagar, wie Stolygvo [2]) weiter beobachtete, „als vorzüglicher Indikator bei der Trennung von Pneumokokken aus gemischtem Material verschiedenartigsten Ursprungs, da wir um die Kolonien der Pneumokokken und ihnen verwandten Formen auf erhitztem Blutagar schon in den frühesten Wachstumsstadien mit großer Beständigkeit eine helle Entfärbungszone entdeckten, was bei bestimmten anderen Streptokokkenformen niemals zu beobachten ist".

Auf Blutagar wachsen die Pneumokokken mit einer olivgrünen Färbung, und ihre Kolonien erscheinen flach und gedellt. Ferner hat man beobachtet, daß die Pneumokokken die Eigenschaft besitzen, auf der Blutplatte einen grünen Hof um die Kolonien zu bilden. Schnabel stellte fest, daß die graubraune oder rotbraune Verfärbung der durch Blutzusatz rotgefärbten Bouillonkultur bezw. Aufschwemmung auf der Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin beruhe, und daß dieses Methämoglobinbildungsvermögen der Bouillonkulturen auch durch Optochin oder glykocholsaures Natrium nicht wesentlich beeinträchtigt wird. Wie Schnabel auf Grund seiner Versuche gezeigt hat, ist das Methämoglobinbildungsvermögen der Pneumokokken durch die alkalische Reaktion und die reduktionsfördernden Eigenschaften des Blutserums stark behindert, und bereits gebildetes Methämoglobin kann ohne weiteres in Hämoglobin zurückverwandelt werden. Die Feststellung Schnabels, daß das Methämoglobinbildungsvermögen der

[2]) S. Lit. Verz. Nr. 84.

Pneumokokkenbouillonkulturen auch durch Optochin oder glychocholsaures Natrium nicht wesentlich beeinträchtigt wird, ist von besonderer Bedeutung deshalb, weil es vorkommen kann, daß die Gallereaktion negativ bleibt, die Diagnose jedoch, wie Rochs [3]) schreibt, „in suspenso bleibt, weil die Feststellungen von Neufeld und Händel Geltung haben, daß die bakteriolytische Wirkung der Galle bei hochvirulenten Pneumokokken niemals vermißt wird, während avirulente Pneumokokkenstämme durch Galle nicht aufgelöst werden". Daß der Pneumokokkus außerordentlich schnell seine Virulenz verliert, wurde schon erwähnt. Nun hat es sich auch erwiesen, daß die Pneumokokkenkolonien, die man aus Plattenkulturen erhält, einen bedeutend geringeren Grad an Virulenz erreichen können als jene, welche durch Tierimpfung mit Massenkulturen gewonnen sind, und daß durch Züchtung auf künstlichen Nährböden die Virulenz in allen Kulturen stetig abnimmt.

Als ein weiteres Merkmal zur Differenzierung der Pneumokokken kann die von Hiß angegebene Inulinvergärung herangezogen werden. Sie wird durch Verimpfung der Pneumokokken auf einen Nährboden festgestellt, der aus 100 ccm Rinderserum, 200 ccm Aqua destillata und 3 g Inulin besteht, wozu 18 ccm Lackmustinktur hinzugefügt werden. Der Pneumokokkus vergärt das Inulin unter starker Säurebildung, und das Nährsubstrat wird, wie von Hiß angegeben ist, vom Pneumokokkus zum Koagulieren gebracht. Der Streptokokkus longus et mitior verursacht keine Vergärung des Inulins, seine Säurebildung reicht nicht dazu aus, das durch Erhitzen denaturierte Serumeiweiß zur Gerinnung zu bringen. Das Nährsubstrat wird nicht zum Koagulieren gebracht, obwohl er darin wächst. Der Nährboden wird nach 24stündiger Bebrütung intensiv rosarot gefärbt und erstarrt, wenn das Inulin gespaltet worden ist. Oft findet man zwar die Rotfärbung, aber keine Erstarrung, wobei es sich dann um eine leichte Vergärung handelt. Wie Hiß weiter beobachtete, besitzt der Pneumokokkus auch die Fähigkeit, aus Lösungen von Monosacchariden, Disacchariden und auch von solchen komplexen Sacchariden wie Dextrin, Glykogen und Stärke leicht Säure zu bilden, während Streptokokken nicht imstande sind, Stärke und Glykogen in Gärung zu versetzen. Bei Tierpassagen

[3]) S. Lit. Verz. Nr. 69.

und bei der Fortzüchtung verlieren die Pneumokokken sehr schnell ihr ursprüngliches Vergärungsvermögen, wie bereits Hiß feststellte, was dann auch von anderen Forschern bestätigt wurde. Wenn man sich zusammenfassend die Beobachtungen, die man bei der von Hiß angegebenen Inulinvergärung machte, überlegt, so kommt man zu dem Schluß, daß es sich hier nicht um ein ganz regelmäßiges und konstantes Merkmal handelt, und daß man differentialdiagnostisch zur Unterscheidung von Pneumokokken und Streptokokken die Hiß'sche Inulinvergärung nur sehr beschränkt verwenden kann, wenn man diese Methode nicht ganz ablehnt.

Eine sehr interessante Feststellung machte Dresel, der beobachtete, daß Fettemulsionen auf Pneumokokken in der Weise einwirkten, daß schon nach kurzer Zeit eine vollständige Bakteriolyse eintrat. Durch mikroskopische Untersuchung wurde die Bakteriolyse bestätigt. Es handelt sich hier um eine wichtige Beobachtung, die aber den Nachteil hat, daß nicht nur die Pneumokokken, sondern alle untersuchten grampositiven Bakterien die Bakteriolyse mit Fettemulsion ergaben.

Charakteristisch und ebenfalls für die Differenzierung der Pneumokokken zu verwerten ist die hohe Tierpathogenität für Mäuse und Kaninchen. Hierbei ist die teigige Schwellung am Kaninchenohr nach subcutaner Injektion gut zur Differentialdiagnose gegenüber dem Streptokokkenerysipel zu verwenden.

Ein weiteres sehr wichtiges Merkmal der Pneumokokken ist die hohe Empfindlichkeit gegenüber dem Aethylhydrocuprein (Optochin). Eine der grundlegenden Arbeiten stammt hier von Nachmann. In dieser wird festgestellt, daß bereits ein Zusatz von Optochin zu gewöhnlichem Blutagar genügt, um Pneumokokken durch das Ausbleiben des Wachstums, insbesondere von grünwachsenden Streptokokken, leicht zu unterscheiden. Nachmann empfiehlt, daß man sich eine Verdünnung von Optochin in Ascitesbouillon 1:100 000 vorrätig hält und im Eisschrank aufbewahrt, denn nach seinen Ergebnissen ist es die Verdünnung 1:20 000 bis 1:200 000, in der Streptokokken starkes Wachstum haben, Pneumokokken dagegen nicht mehr wachsen. Die Optochinreaktion wird am besten in Form des Reagenzglasversuches als Entwicklungshemmungsversuch angesetzt. Nach weiteren Feststellungen ist die Wirksamkeit des Optochins wesentlich erhöht, wenn man eine Einwirkungstemperatur von 37° wählt.

Wie aus dem bisher Gesagten ohne weiteres zu entnehmen ist, ist die in erster Linie in Betracht kommende Differentialdiagnose beim Vorliegen grampositiver Kokken die Abgrenzung der Pneumokokken gegen Streptokokken. Wenn auch die Bedeutung der bisher angegebenen Merkmale zur Differenzierung der Pneumokokken, insbesondere die kulturellen Merkmale und die hohe Empfindlichkeit gegenüber dem Optochin, keineswegs außer acht zu lassen sind, so ist doch die bei weitem wichtigste, ja man kann sagen, zur Diagnose ausschlaggebende Reaktion, die Auflösung der Pneumokokken durch Galle und gallensaure Salze. In Anbetracht der großen Bedeutung, die dieser Reaktion zukommt, soll auf sie ausführlich eingegangen werden.

Die bakteriologische Wirkung der Galle auf Pneumokokken wurde zuerst von F. Neufeld beobachtet. Der Verlauf der Reaktion wurde von ihm selbst wie folgt geschildert [4]): „Bringt man 0,1 ccm Kaninchengalle in ein Reagenzröhrchen, füllt dazu 1,0—2,0 ccm einer Bouillonkultur von Pneumokokken und schüttelt kräftig durch, so bemerkt man meist schon sogleich, wenn man einen hängenden Tropfen des Gemisches anfertigt, daß die Kokken spärlicher sind, als sie es in der Bouillonkultur waren, die Ketten sind kürzer, einzelne Glieder davon erheblich kleiner und am Rande unregelmäßig, wie „angenagt". Im Verlauf der nächsten Minuten sieht man die Mikroorganismen teils immer kleiner, teils auch nur undeutlicher, schließlich ganz schattenhaft werden, bis sie endlich völlig unsichtbar sind. In keinem Stadium ist dabei eine Quellung zu konstatieren. Der ganze Prozeß nimmt eine etwas variable Zeit in Anspruch, manchmal ist er in 3 bis 4, manchmal erst in 15 bis 20 Minuten oder noch etwas später beendet: alsdann haben wir eine Flüssigkeit vor uns, welche dem bloßen Auge absolut klar und durchsichtig, natürlich durch den Gallenfarbstoff grünlich oder bräunlich gefärbt erscheint. Auch mit dem Mikroskop entdeckt man nichts darin, als etwa einige, in der Galle enthaltene Epithelien: Die Bakterien sind völlig in Lösung übergegangen. Auf einen neuen Nährboden übertragen, erweist sich die Flüssigkeit, wenn man den völligen Ablauf des Prozesses abgewartet hat, als steril."

Um die Möglichkeit eines Zufallsergebnisses auszuschalten, untersuchte Neufeld eine ganze Anzahl von Pneumokokken-

[4]) S. Lit. Verz. Nr. 44.

stämmen und nahm andererseits verschiedene Kaninchengallen, ja selbst Gallen anderer Tiere sowie Menschengalle und fand dabei immer die gleiche bakteriolytische Kraft der Galle auf die Pneumokokkenkulturen. Lediglich die Pneumokokken, die man durch Hitze abgetötet hatte, gaben nicht die typische auflösende Reaktion. Bei seinen Versuchen mit Gallen verschiedener Herkunft fiel Neufeld auf, daß zwar alle verwendeten Gallen die Reaktion gaben, daß aber die Zeit bis zur völligen Auflösung bei den einzelnen Gallen recht verschieden war. Auch die Menge der aufzulösenden Pneumokokkenkultur beeinflußte den zeitlichen Ablauf der Reaktion. Um nun der Frage näher zu treten, worauf die verschieden große bakteriolytische Wirkung der Gallen beruhe, stellte Neufeld eine Anzahl weiterer Versuche an, als deren Ergebnis sich zeigte, daß die Schwankungen in der Stärke der Wirkung auf der verschiedenen Löslichkeit der Gallen beruhten. Wie sich später dann herausstellte, sind es in erster Linie die albuminoiden und schleimigen Substanzen der Galle, welche die bakteriolytische Wirkung auf die Mikroorganismen hemmen. So konnte man beobachten, daß klare, dünnflüssige Gallen, welche sich mit der zugesetzten Bouillonkultur gut mischten, in ihrer Wirkung bedeutend besser waren als trübe, zähflüssige Gallen. Die oft stark verzögerte Reaktion der menschlichen Galle findet auf diese Weise auch ihre Rechtfertigung, denn wie allgemein bekannt ist, ist Menschengalle nicht nur sehr zähflüssig, sondern enthält außerdem noch viele ungelöste Bestandteile, die für den Ablauf der Reaktion natürlich auch hinderlich sind.

In dieser Hinsicht sind nun die Versuche von Vetrano [5]) zu beachten, der von der Vorstellung ausging, daß die albuminoiden Substanzen, die Salze, die Extraktionsstoffe und die von den Bakterien in der Bouillonkultur selbst produzierten toxischen Produkte, die Wirkung der Galle auf den Diplokokkus herabsetzen, beziehungsweise hemmen können. Er versuchte eine Bouillonkultur von Pneumokokken von allen ihren Bestandteilen, die auf die bakteriolytische Wirkung der Galle hemmend einwirkten dadurch zu isolieren, daß er seine Pneumokokkenkultur 1 Stunde lang zentrifugierte (5000 Umdrehungen in der Minute), anschließend 3 mal mit steriler physiologischer Lösung auswusch und dann in destilliertem sterilem H_2O suspendierte,

[5]) S. Lit. Verz. Nr. 90.

bevor er seine Galle, die er aseptisch aus der Gallenblase entnommen hatte, zusetzte. Er fand dabei, daß die auflösende Wirkung der Galle bei seiner vorbehandelten Pneumokokkenbouillonkultur eine 10 mal stärkere war, als bei der nicht vorbehandelten Kultur. Vetrano folgerte aus diesen seinen Versuchen ganz richtig, daß also die auflösende Wirkung der Galle eine sehr hohe Grenze haben müsse. Von dieser Erkenntnis ausgehend, ist auch die Mitteilung von Buerger zu erklären, der behauptete, daß die bakteriolytische Wirkung der Galle auf den Fränkel'schen Diplokokkus keine konstante sei, denn die Unbeständigkeit der Resultate bei Buerger dürfte wohl in erster Linie ihre Ursache darin haben, daß die verwendete Ascitesbouillon und der Blutagar die Reaktion durch ihre Unbeständigkeit zu sehr beeinflußten.

Bereits Neufeld stellte Untersuchungen an, um festzustellen, auf welchen Bestandteilen der Galle die bakteriolytische Kraft beruhe. Er fand, daß auch die „kristallisierte Galle" die spezifische Reaktion gab und kam durch weitere Untersuchungen zu dem Schluß, daß die gallensauren Salze für die Bakteriolyse verantwortlich zu machen sind.

Diese Beobachtung Neufelds veranlaßte zur Anstellung differentialdiagnostischer Untersuchungen mit gallensauren Salzen [6]). Die Verwendung gallensaurer Salze gegenüber der Tier- und Menschengalle mußte ja viele Vorzüge haben, denn man kann diese erstens stets vorrätig halten, und zweitens ist es möglich, eine genaue quantitative Konzentrationsgrenze festzusetzen, was bei Verwendung der Galle immerhin gewisse Schwierigkeiten ergibt, da die Anhaltspunkte, wieviel der wirksamen Substanz in ihr enthalten sind, fehlen. Die Untersuchungen wurden mit taurocholsaurem Na (von Merck) durchgeführt und die Verdünnungen mit Nährbouillon hergestellt. Ferner wurde zu jedem Versuch eine frische Lösung angesetzt, denn der Erfolg der Reaktion wird bei nicht sterilem Vorgehen und längerem Stehen der Lösung durch alle möglichen Keime, die in der Lösung zur Entwicklung kommen, beeinflußt. Die Untersuchungen über die bakteriolytische Kraft des taurocholsauren Na zeigten, „daß das taurocholsaure Natrium in einer Konzentration von 2,5 % bei allen untersuchten Stämmen von Diplokokkus

[6]) S. Lit. Verz. Nr. 43.

lanceolatus mikroskopisch eine vollkommene Bakteriolyse bewirkt, daß dagegen alle anderen Streptokokken in keiner Weise davon beeinflußt werden". [7]) Zu dem gleichen Ergebnis führten die Untersuchungen, die mit einer 5%igen Natriumtaurocholl-Lösung durchgeführt wurden. Bei den Versuchen verließ man sich keineswegs nur auf die makroskopische Beobachtung, in der man die durch den Zusatz der Gallelösung zu der Pneumokokkenkultur bedingte Aufhellung bereits als bakteriolytischen Vorgang bezeichnen könnte, sondern man verfolgte den Verlauf der Reaktion stets im hängenden Tropfen, wo man jede Spur von Kokken vermißte, wenn man die Reaktion mit einer Pneumokokkenbouillonkultur ausführte. Die Grenze, wo die bakteriolytische Kraft der taurocholsauren Natrium-Lösung nicht mehr ausreichte, um eine vollkommene Auflösung der Pneumokokkenkultur zu erzielen, wird nach den Versuchen als sehr ungleichmäßig angegeben. Einmal lag die Grenze der Konzentration des taurocholsauren Na schon bei 1,25 %, einmal erst bei 0,3 %. Für die praktische Anwendung des Diagnostikums empfiehlt man folgende Anordnung: „Man vermischt gleiche Teile mit einer 5%igen oder 10%igen Lösung von taurocholsaurem Natrium in Bouillon und einer 24stündigen Bouillonkultur (je 0,5 ccm sind hinreichend) und als Kontrolle gleiche Mengen Kultur und sterile Nährbouillon. Man hat also Konzentrationen von 2,5 oder 5 % erreicht. Dann schüttelt man einige Male kräftig, daß sich die Lösungen gut mischen, was rasch geschieht, und in der Regel sieht man sofort, selten erst nach einigen Minuten, daß die mit gallensaurem Salz versehenen Röhrchen mit Pneumokokkenkultur, gegenüber der trüben Kontrolle, vollkommen aufgehellt erscheinen." [8])

Vielerlei Einwände werden dagegen gemacht, daß es sich bei der bakteriolytischen Wirkung der Galle und der gallensauren Salze um eine spezifische Reaktion handelte. So wird u. a. berichtet, daß nur Galle in der Lage ist, eine vollkommene Bakteriolyse hervorzurufen, während die gallensauren Salze nur eine Aufhellung bewirken sollen. Es soll zwar eine völlige Klärung der Kultur eintreten, jedoch werden nach Zusatz von Methylenblau Schatten sichtbar. Man beging ganz offensichtlich den Fehler, daß man von einer gallensalzsauren Lösung eine

[7]) Vergl. Anm. Nr. 6.
[8]) Vergl. Anm. Nr. 6.

ungenügende Menge zusetzte. Daß man dann nur eine Aufhellung beobachtet, ist sogar ein Beweis für die Ansicht, daß zur Anstellung der Reaktion eine 2,5- oder 5%ige gallensaure Salzlösung nötig sei, da in geringerer Konzentration die Bakteriolyse ausbleiben kann. Aber nicht nur die Gallensalze bewirken in zu schwacher Konzentration zugesetzt nur eine Aufhellung, sondern die gleiche Beobachtung wird auch bei der Galle gemacht.

Nach Untersuchungen von Lord, Frederik, T. and Robert N. Nye übt auch die Wasserstoffionenkonzentration der Galle auf deren bakteriolytische Wirkung bei der Auflösung der Pneumokokken einen bestimmten Einfluß aus. Man säuerte die Gallelösung mit HCl an und fand, daß — normal war das p_H der verwendeten Tiergalle 7,8 — von $p_H = 6{,}1$ an nach der alkalischen Seite hin Lösung stattfand, nach der sauren Seite hin beobachtete man dagegen keine Bakteriolyse mehr.

Mehrere Forscher, u. a. Neufeld und Händel, sowie Wámoscher, trafen bei ihren Untersuchungen auf Diplokokkenstämme, welche keine Bakteriolyse gaben. Bei näheren Betrachtungen fand man, daß es sich in diesen Fällen stets um avirulente Stämme handelte. Es ist aber auch bekannt, daß Pneumokokken, wenn sie ihre Virulenz verlieren, ihr ganzes Verhalten ändern. So wird die Kolonienform eine andere; sie fließen zusammen und werden undurchsichtig, in Bouillonkultur werden längere Ketten gebildet, die Fähigkeit der Kapselbildung geht verloren, und das Wachstum der Kokken wird nunmehr auch bei Zimmertemperatur gut. Gleichzeitig mit diesen Veränderungen ändert sich auch das Verhalten der Galle. So weisen mehrere Autoren [9]) darauf hin, daß solche Stämme nicht mehr mit Sicherheit als Pneumokokken zu erkennen sind, und die Annahme, daß hier vielleicht ein Uebergang in eine Steptokokkenform stattgefunden hat, liegt durchaus im Bereich des Möglichen, denn daß ein solcher Uebergang möglich ist, wurde bereits von vielen Forschern [10]) experimentell bewiesen.

Weiter wurde festgestellt, daß die Fähigkeit der Mutation in gewissem Zusammenhang mit der Virulenz stehe und zwar so,

---

[9]) S. Lit. Verz. Nr. 41.

[10]) S. Lit. Verz. Nr. 52, 53, 54.

daß nicht virulente Mikroorganismen leichter Mutationen eingehen als virulente Kulturen.

Als Zusammenfassung der Beobachtungen heißt es, daß „die Mutationen, welche in vitro beobachtet wurden, als „retrogressive" bezeichnet werden können, während die im Tierkörper beobachteten als „progressive" zu kennzeichnen sind. Virulenz, Gährungsvermögen, Größe, Kapselbildung nehmen im Reagenzglas ab, während sie im Tierkörper eine Steigerung erfahren". [11])

Auch eine durch Hitze abgetötete Pneumokokkenkultur ergibt mit Galle oder gallensauren Salzen keine Bakteriolyse. Jedoch hat Tani beobachtet, daß eine Pneumokokkenkultur die auf 34° erhitzt worden war, wohl eine Virulenzabschwächung zeigte, aber dennoch eine positive Gallereaktion gab.

Es wird heute wohl kaum mehr ernstlich bezweifelt werden, daß die Erscheinung der Pneumokokkenauflösung durch Galle und gallensaure Salze für Pneumokokken charakteristisch ist. Daß aber trotzdem die Gallereaktion sich als Hilfsmittel zur Differenzierung der Pneumokokken noch nicht allgemein den ersten Platz erobert hat, mag wohl folgende Ursache haben:

Die Verwendung der Galle zur Differenzierung der Pneumokokken nach der Methode von Neufeld hat den Nachteil, daß die Wirkung der Galle keine konstante ist. Die Reaktion schwankt, da das Vorkommen der wirksamen Substanzen in der Galle eine verschiedene ist, wie auch die verschiedene Löslichkeit der Gallen Schwankungen in der Stärke der Wirkung hervorruft. Weiterhin macht es immerhin große Schwierigkeiten, frische Galle zu erhalten. Bei der Durchführung der Reaktion mit einer Lösung von gallensauren Salzen haben wir den Nachteil, daß wir uns zu jeder Reaktion eine frische Lösung von gallensauren Salzen bereiten müssen.

Neufeld und Händel gaben als typisches Reagens zur Anstellung der spezifischen Reaktion eine 10%ige Lösung von taurocholsaurem Natrium an, die sie in physiologischer Kochsalzlösung lösten, durch Kochen sterilisierten und zum Schutze gegen Pilz- und Bakterienwucherung mit Glycerin versetzten. Weiter stellten sie fest, daß nicht nur die gallensauren Salze, sondern auch die Taurocholsäure (Acidum taurochocholicum) die

[11]) S. Lit. Verz. Nr. 70.

Pneumokokkenkulturen auflöste. Obwohl Neufeld und Händel berichten, daß die Taurocholsäure sogar in erheblich geringerer Konzentration wirke, machen sie keine näheren Angaben, insbesondere über die Art des Lösungsmittels.

Grixoni beobachtete bei seinen Untersuchungen, daß die Galle sowie deren Salze, wenn sie sterilisiert oder auf andere Weise aufbewahrt werden, zum Teil ihr bakteriolytisches Vermögen verlieren. Ob und inwieweit die spezifische Reaktion unter dem angeblichen Verlust des bakteriolytischen Verhaltens der sterilisierten Galle, sowie der Salze zu leiden hat, wollen wir näher untersuchen.

In meinen Versuchen beschäftigte ich mich zunächst mit der bakteriolytischen Wirkung des taurocholsauren Natriums (Natrium taurocholicum von Merck) und glycocholsauren Natriums (Natrium glycocholicum von Merck) auf eine 24stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur. Beide angeführten Gallensalze sind in fester Substanz stets zu erhalten. In kaltem Aqua destillata und in kalter steriler physiologischer Kochsalzlösung sind sie weniger gut, in warmem Aqua destillata und warmer steriler physiologischer Kochsalzlösung dagegen gut löslich. Bei den von mir untersuchten Pneumokokkenstämmen handelt es sich um einen Typ I, der aus dem Eiter einer Otitis media, um einen Typ III, der ebenfalls aus dem Eiter einer Otitis media und um einen Pneumokokkus der Gruppe X, der aus der Punktionsflüssigkeit eines Pneumoniekranken isoliert und reingezüchtet wurde.

Zur Diagnose und Reinzüchtung der Pneumokokken dienten der Tierversuch, das Löffler-Serum, die Blutplatte, das Wachstum auf Gelatine, die Galleprobe und das nach Gram gefärbte Präparat. Alle verwandten Pneumokokkenstämme waren in hohem Grade mäusepathogen, zeigten gutes Wachstum auf Löffler-Serum und der Blutplatte, auf welcher die Kolonien keine Hämolyse verursachten. Auf Gelatine wurde kein Wachstum beobachtet. Alle Pneumokokkenstämme wurden von Rindergalle gelöst, waren grampositiv und zeigten die typische Lanzettform, meist zu zweien zusammengelagert, aber auch kurze Ketten bildend. Zu meinen Versuchen reicherte ich die Pneumokokken in Serumbouillon an, und zwar gab ich auf 4—6 ccm Serumbouillon eine kräftige Oese Pneumokokkenkultur, um sie dann 24 Stunden im Brutschrank wachsen zu lassen.

Die Frage, welches der beiden Gallensalze, ob das Natrium taurocholicum oder das Natrium glycocholicum zur Anstellung der Reaktion geeigneter sei, wurde in der ersten Versuchsreihe geklärt. Zu diesem Zwecke stellte ich mir Lösungen dieser beiden Gallensalze in Konzentrationen von 20%, 10%, 5%, 2,5% und 1,25% her und verwendete als Lösungsmittel Aqua destillata.

Je 0,2 ccm der in Reagenzgläser verteilten 24-stündigen Pneumokokkenserumbouillonkultur wurden mit je 0,2 ccm der frisch zubereiteten gallensauren Salzlösungen in den verschiedensten Konzentrationen vermischt und als Kontrolle gleiche Mengen Kultur und sterile physiologische Kochsalzlösung. Alle Versuche wurden in vitro angestellt und bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ausgeführt. Die makroskopische Besichtigung wurde in allen Fällen durch die kulturelle Kontrolle auf der Blutplatte ergänzt.

In allen Tabellen, die eine Uebersicht über die ausgeführten Versuche enthalten, wurden folgende Abkürzungen eingeführt: War nach 24stündigem Bebrüten der Blutplatte kein Wachstum von Pneumokokken mehr festzustellen, wurde ein — eingesetzt. Trat dagegen noch Wachstum von Pneumokokken ein, ist ein + eingesetzt.

Tabelle 1

24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur	Frisch zubereitete taurocholsaure Salzlösung (gelöst in Aqua dest.)	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
0,2 ccm	0,2 ccm 20%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 10%ige	Nach 15 Min. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 5%ige	Nach 24 Std. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 2,5%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+
0,2 ccm	0,2 ccm 1,25%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+

Tabelle 2

24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur	Frisch zubereitete glycocholsaure Salzlösung (gelöst in Aqua dest.)	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
0,2 ccm	0,2 ccm 20%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 10%ige	Nach 24 Std. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 5%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+
0,2 ccm	0,2 ccm 2,5%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+
0,2 ccm	0,2 ccm 1,25%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+

Wie bereits in den Tabellen 1 und 2 zum Ausdruck kommt, ist das taurocholsaure Natrium in seiner spezifischen Wirkung auf eine 24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur wirksamer als das glycocholsaure Natrium. Die in den Tabellen 1 und 2 angegebenen Versuche wurden unter den gleichen Bedingungen nun wiederholt, und zwar wurde als Lösungsmittel der Gallensalze nicht mehr Aqua destillata, sondern sterile physiologische Kochsalzlösung verwandt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengefaßt:

Tabelle 3

24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur	Frisch zubereitete taurocholsaure Salzlösung (gelöst in ster. phys. Kochsalzlös.)	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
0,2 ccm	0,2 ccm 20%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 10%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 5%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 2,5%ige	Nach 15 Min. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 1,25%ige	Nach 24 Std. Klärung	—

Tabelle 4

24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur	Frisch zubereitete glycocholsaure Salzlösung (gelöst in ster. phys. Kochsalzlös.)	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
0,2 ccm	0,2 ccm 20%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 10%ige	Sofort vollständ. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 5%ige	Nach 24 Std. Klärung	—
0,2 ccm	0,2 ccm 2,5%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+
0,2 ccm	0,2 ccm 1,25%ige	Nach 24 Std. noch trüb	+

Auch die in den Tabellen 3 und 4 ausgeführten Versuche lassen deutlich erkennen, daß das taurocholsaure Natrium dem glycocholsauren Natrium zur Anstellung der Reaktion überlegen ist. Ferner geht aus einem Vergleich der Tabellen 1 und 2 mit den Tabellen 3 und 4 hervor, daß als Lösungsmittel für die Gallensalze die sterile physiologische Kochsalzlösung weit geeigneter erscheint, als Aqua destillata. Weiterhin lassen die bisher durch-

geführten Versuche erkennen, daß die Konzentration der gallensauren Salze für den Ablauf der Reaktion von ausschlaggebender Bedeutung ist. Je niedriger die Konzentration der gallensauren Salze wurde, desto länger dauerte es, bis eine vollkommene Bakteriolyse eintrat. Demnach spielt auch die Einwirkungsdauer bei der Durchführung der spezifischen Reaktion eine Rolle.

In einer weiteren Reihe von Versuchen wurde der Einfluß der Temperatur bei dem Ablauf der Reaktion untersucht. Es wurden wieder jeweils 0,2 ccm einer 24-stündigen Pneumokokkenserumbouillonkultur mit 0,2 ccm der frisch zubereiteten gallensauren Salzlösung gemischt und nach einigem kräftigen Schütteln das Reagenzglas in den Brutschrank gestellt.

Tabelle 5

24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur	Gallensalzlösung 0,2 ccm	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
0,2 ccm	2,5%oig Na-taurocholat gelöst in Aqua destil.	Nach 24 Std. Klärung	—
0,2 ccm	1,25%oig Na-taurochol. gelöst in Aqua destil.	Nach 24 Std. noch trüb	+
0,2 ccm	1,25%oig Na-taurochol. gelöst in phys. Kochsalz	Nach 15 Min. Klärung	—
0,2 ccm	5%oig Na-glychol. gelöst in Aqua destil.	Nach 24 Std. Klärung	—
0,2 ccm	2,5%oig Na-glychol. gelöst in Aqua destil.	Nach 24 Std. noch trüb	+
0,2 ccm	2,5%oig Na-glycochol. gelöst in steril. phys. K.	Nach 24 Std. noch trüb	+

Wie aus der Tabelle 5 zu ersehen ist, wird die spezifische Reaktion der gallensauren Salzlösungen auf eine 24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur günstig beeinflußt, wenn man nach dem Mischen der Kultur mit dem Gallensalz das Reagenzglas in den Brutschrank stellt. So war z. B., wenn ich 0,2 ccm Kultur mit 0,2 ccm einer 2,5%oigen Natrium-taurocholi-

cumlösung, gelöst in Aqua destillata, mischte, nach 24 Stunden noch keine vollkommene Bakteriolyse eingetreten, wenn wir die Reaktion bei Zimmertemperatur vor sich gehen ließen. Konnte die Reaktion dagegen im Brutschrank ablaufen, so war nach 24 Stunden eine vollkommene Bakteriolyse eingetreten, die Lösung war klar, und bei der mikroskopischen Untersuchung wurden keinerlei Kokken mehr gefunden.

Daß auch die Menge der aufzulösenden Pneumokokkenkultur den zeitlichen Ablauf der Reaktion beeinflußte, geht aus einer Reihe von Versuchen hervor, die ich in Tabelle 6 zusammengefaßt habe. Anstatt gleiche Teile Kultur mit gleichen Teilen gallensaurer Salzlösung zu mischen, wurden jeweils 0,2 ccm Kultur mit 0,4 ccm gallensaurer Salzlösung gemischt. Wie aus Vergleichen der Versuche der Tabelle 6 mit früher durchgeführten Versuchen (s. o.) hervorgeht, konnte ich eine vollkommene Bakteriolyse noch erreichen, wenn ich 0,2 ccm Kultur mit 0,4 ccm gallensaurer Salzlösung zusammenbrachte, während unter gleichen Bedingungen 0,2 ccm Kultur mit 0,2 ccm gallensaurer Salzlösung gemischt, keine vollkommene Auflösung ergaben.

Tabelle 6

24-stündige Pneumokokkenserum-bouillonkultur	Gallensalzlösung 0,4 ccm	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
0,2 ccm	10%ige Na-taurochol. gel. in Aqua destil.	Sofort vollst. Klärung	—
0,2 ccm	5%ige Na-taurochol. gel. in Aqua destil.	Nach 15 Min. Klärung	—
0,2 ccm	2,5%ige Na-taurochol. gel. in st. phys. K.	Sofort vollst. Klärung	—
0,2 ccm	1,25%ige Na-taurochol. gel. in st. phys. K.	Nach 15 Min. trüb	+
0,2 ccm	10%ige Na-glycochol. gel. in Aqua destil.	Nach 15 Min. trüb	+
0,2 ccm	5%ige Na-glycochol. gel. in phys. K.	Nach 15 Min. Klärung	—
0,2 ccm	2,5%ige Na-glycochol. gel. in phys. K.	Nach 15 Min. trüb	+

Wie man sieht, war die bakteriolytische Wirkung der gallensauren Salze nur dann eine konstante, wenn ich gleiche

Teile Kultur mit 20%iger oder 10prozentiger gallensaurer Salzlösung mischte. Hier trat meist sofort nach einigem Schütteln bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eine vollkommene Klärung ein, und die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen, sowie die kulturelle Kontrolle auf der Blutplatte bestätigten mir die vollkommene Bakteriolyse der Pneumokokkenserumbouillonkultur. Verwendet man jedoch die gallensauren Salzlösungen in Konzentrationen unter 10%, so ist der Ablauf der Reaktion kein konstanter mehr. In den meisten Fällen bleibt dann die vollkommene Auflösung der Kultur aus. Man kann sie allerdings auch dann noch erreichen, wenn man die Reaktion bei 37° durchführt oder die Kultur nicht zu gleichen Teilen mit der gallensauren Salzlösung mischt, sondern etwa die doppelte Menge einer gallensauren Salzlösung nimmt. Aber auch hier zeigt der Ablauf der Reaktion oft Schwankungen.

Ich beschäftigte mich ferner mit der bakteriolytischen Wirkung der Galle gegenüber den Pneumokokken, Streptokokken und Enterokokken. Die zu meinen Versuchen verwendete Galle stammte aus der Gallenblase eines Rindes und war eine Stunde im Dampftopf sterilisiert worden. Bevor nun die Galle in ein anderes Gefäß umgegossen wird, läßt man sie längere Zeit (bis zu 3 Monaten) stehen, damit sich der Bodensatz gut absetzen kann. Beim Umschütten muß besonders darauf geachtet werden, daß der Bodensatz zurückbleibt. Dies ist nötig, denn die Galle läßt sich nicht filtrieren. Nachdem man die Galle in Röhrchen abgefüllt hat, wird sie nochmals zwei Tage je ½ Stunde im Dampftopf sterilisiert, dann im Eisschrank aufbewahrt. Die Pneumokokken, Streptokokken und Enterokokken wurden wiederum in Serumbouillon angereichert, und zwar wurden 24-stündige Kulturen verwendet. Zu meinen Versuchen wurden jeweils 0,2 ccm Kultur mit 0,2 ccm Galle gemischt.

Tabelle 7

	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
Pneumokokken + Galle	Nach 24 Std. Klärung	Kein Wachstum von Pneumokokken
Streptokokken + Galle	Nach 24 Std. noch trüb	Wachstum von Streptokokken
Enterokokken + Galle	Nach 24 Std. noch trüb	Wachstum von Enterokokken

Wie aus der Tabelle 7 ersichtlich ist, wurde die Pneumokokkenkultur von der Galle prompt aufgelöst, obwohl die Galle schon längere Zeit (etwa 4 Monate) im Eisschrank aufbewahrt worden war. Die Kulturen der Streptokokken und Enterokokken unterlagen der auflösenden Wirkung der Galle dagegen nicht.

Genau der gleichen Behandlung wie die Rindergalle wurden die Lösungen von taurocholsaurem und glycocholsaurem Natrium unterzogen. Es zeigte sich, daß durch das Sterilisieren im Dampftopf die bakteriolytische Kraft der gallensauren Salzlösungen auf Pneumokokkenkulturen in keiner Weise beeinflußt wurde, wie aus der Tabelle 8 zu ersehen ist. Es wurden wieder 0,2 ccm Kultur mit 0,2 ccm gallensaurer Salzlösung gemischt:

Tabelle 8

	Makroskopische Besichtigung	Wachstum auf Blutplatte
Pneumokokk. K. + 20%igem Na-taur. in Aqua dest.	Sofort vollständ. Klärung	—
Pneumokokk. K. + 10%igem Na-taur. in Aqua dest.	Sofort vollständ. Klärung	—
Pneumokokk. K. + 20%igem Na-taur. in ster. phys. Kochs.-Lös.	Sofort vollständ. Klärung	—
Pneumokokk. K. + 10%igem Na-taur. in ster. phys. Kochs.-Lös.	Sofort vollständ. Klärung	—
Pneumokokk. K. + 20%igem Na-glycochol. in Aqua dest.	Sofort vollständ. Klärung	—
Pneumokokk. K. + 10%igem Na-glycochol. in Aqua dest.	Nach 15 Minuten Klärung	—
Pneumokokk. K. + 20%igem Na-glycochol. i. ster. phys. Kochsalz-Lösung	Sofort vollständ. Klärung	—
Pneumokokk. K. + 10%igem Na-glycochol. i. ster. phys. Kochsalz-Lösung	Sofort vollständ. Klärung	—

Die Streptokokken- und Enterokokkenkulturen widerstanden der auflösenden Wirkung der gallensauren Salzlösungen, nachdem sie auch von frisch zubereiteten gallensauren Salzlösungen nicht aufgelöst worden waren.

Die Ansicht, daß man sich zu jeder Reaktion eine frische Lösung bereiten müsse, wurde bereits von Neufeld und Händel widerlegt. Auf Grund meiner Erfahrungen schließe ich mich Neufeld und Händel an, halte es jedoch für unnötig, den gallensauren Salzlösungen zum Schutze gegen Pilz- und Bakterienwucherung Glycerin zuzusetzen, wie dies Neufeld und Händel angeben. Eine im Dampftopf sterilisierte gallensaure Salzlösung läßt sich im Eisschrank lange Zeit aufbewahren, ohne daß eine Einbuße der bakteriolytischen Wirkung auf Pneumokokkenkulturen eintritt. Im übrigen möchte ich darauf hinweisen, daß sich die gallensauren Salzlösungen sehr leicht filtrieren lassen. Ich benutzte zu ihrer Filtration den Berkefeld-Filtertopf, bei dem man keimfreie Filtrate erhält. Sollten also die gallensauren Salzlösungen durch langes Aufbewahren eine Trübung erkennen lassen, so empfiehlt es sich, sie vor Anstellung der Reaktion zu filtrieren. In ihrer bakteriolytischen Kraft werden sie durch den Filtrationsvorgang nicht beeinflußt. Ich halte demnach die gallensauren Salzlösungen zur Anstellung der spezifischen Reaktion für geeigneter als die Galle und empfehle insbesondere eine 20%ige oder 10%ige Lösung von taurocholsaurem Natrium, gelöst in steriler physiologischer Kochsalzlösung und im Dampftopf sterilisiert, möchte aber auch darauf hinweisen, daß die — wie oben angegeben — vorbehandelte Galle eine sichere Reaktion gibt, die allerdings längere Zeit in Anspruch nimmt. Wenn man also ständig Galle vorrätig halten muß, z. B. zur Typhusanreicherung, so ist gegen deren Verwendung als sicheres Hilfsmittel zur Diagnose der Pneumokokken nichts einzuwenden.

Ich untersuchte weiterhin noch das Verhalten der gallensauren Salzlösungen gegenüber einer nach Vetrano [1]) vorbehandelten Pneumokokkenserumbouillonkultur. Vetrano gibt an, daß die auflösende Wirkung der Galle bei seiner vorbehandelten Pneumokokkenkultur eine 10 mal stärkere war, als bei der nicht vorbehandelten Kultur. Ich zentrifugierte unsere Pneumokokken-

[1]) A. a. O.

serumbouillonkultur eine Stunde lang (etwa 2000 Umdrehungen in der Minute), wusch anschließend 3 mal mit steriler physiologischer Kochsalzlösung aus und suspendierte sie dann in Aqua destillata, wie dies Vetrano angegeben hat. Dann mischte ich wieder die vorbehandelte Kultur zu gleichen Teilen mit meinen gallensauren Salzlösungen, ohne jedoch eine verstärkte Wirkung im Sinne Vetranos anzutreffen.

Wenn man die bakteriolytische Kraft der gallensauren Salze zur Diagnose der Pneumokokken, insbesondere zur Abgrenzung gegen Streptokokken verwendet, so empfehle ich eine Lösung von taurocholsaurem Natrium zu 20 % oder 10 %, die in steriler physiologischer Kochsalzlösung gelöst und durch Kochen im Dampftopf sterilisiert wurde, zu gleichen Teilen mit 24-stündiger Serumbouillonkultur zu mischen. Nach einigem kräftigen Schütteln wird eine vollständige Klärung eintreten, wenn es sich um eine Pneumokokkenkultur handelt. Die Klärung wird dagegen beim Vorliegen einer Streptokokkenkultur ausbleiben.

Zusammenfassung.

I. Ich untersuchte die bakteriolytische Wirkung von frisch zubereiteten Lösungen des taurocholsauren und glycocholsauren Natriums (von E. Merck) auf eine 24-stündige Pneumokokkenserumbouillonkultur und fand:

1. Das taurocholsaure Natrium erwies sich zur Anstellung der Reaktion geeigneter als das glycocholsaure Natrium.
2. Die Einwirkungszeit, die Einwirkungstemperatur, sowie die Menge und die Konzentration der einwirkenden gallensauren Salzlösung sind bei der Durchführung der spezifischen Reaktion von ausschlaggebender Bedeutung.
3. Als Lösungsmittel für die gallensauren Salze erwies sich die sterile physiologische Kochsalzlösung dem Aqua destillata überlegen.
4. Konstante Ergebnisse in der bakteriolytischen Kraft der gallensauren Salzlösungen erzielte ich nur dann, wenn ich die gallensauren Salze in Konzentrationen von 20%iger oder 10%iger Lösung anwendete.

II. Die durch Kochen steril gemachten gallensauren Salzlösungen lassen sich längere Zeit aufbewahren, ohne daß ihre auflösende Wirkung eine Einbuße erleidet.

III. Auch die im Dampftopf sterilisierte Rindergalle läßt sich lange Zeit (bis zu 6 Monaten) im Eisschrank aufbewahren, ohne ihre bakteriolytische Kraft auf eine 24-stündige Pneumokokkenkultur zu verlieren.

IV. Die Angabe von Vetrano, daß eine durch Zentrifugieren, dreimaliges Auswaschen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung und anschließendem Suspendieren in destilliertem sterilem H_2O vorbehandelte Pneumokokkenserumbouillonkultur für die Anstellung der spezifischen Reaktion 10 mal besser geeignet sei, als eine unvorbehandelte Kultur, konnte ich nicht bestätigen.

Aber selbst wenn die von Vetrano gemachten Angaben zutreffen würden, käme ihnen keine besondere Bedeutung zu, denn die Ausführung dieser Reaktion ist für die Praxis viel zu umständlich.

V. Während sich die Galle nur sehr schlecht, meistens garnicht filtrieren läßt, lassen sich die gallensauren Salzlösungen sehr gut filtrieren.

VI. Streptokokken- sowie Enterokokkenserumbouillonkulturen wurden weder von der Galle, noch von den gallensauren Salzlösungen aufgelöst.

VII. Zur Anstellung der bakteriolytischen Reaktion empfehle ich eine Lösung, in welcher Natrium taurocholicum (Merck) zu 20% oder 10% in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und durch Kochen sterilisiert ist, zu gleichen Teilen mit der Pneumokokkenserumbouillonkultur zu mischen.

Literatur-Verzeichnis.

1. **Adler:** Z. Hyg. 101; 140; 1924.
2. **Adler u. Singer:** Med. Klin. 12; 429; 1935.
3. **Avery, Chickering, Cole and Dochez:** Monographs Rockefeller Institut (med. Res.) 7,1; 1917.
4. **Bail:** Handbuch der mikrobiologischen Technik v. Kraus u. Uhlenhuth; Bd. 2, S. 1152.
5. **Baumgarten:** Z. klin. Med. 11; 399; 1886.
6. **Berger** und **Engelmann:** 1. Klin. Wochenschr. 14; 599; 1926. 2. Dtsch. med. Wschr. 32; 1317; 1925.
8. **Berger** und **Jakob:** Z. Immun. Forsch. 43; 235; 1925.
9. **Berger** und **Silberstein:** Klin. Wschr. 49; 2307; 1926.
10. **Bieling:** Tbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 86; 257; 1921.
11. **Buerger:** J. of exper. Med. 5; 497; 1905.
12. **Bürgers:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Ref. Beiheft 50; 125; 1911.
13. **Bürgers** und **Herz:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 91; 42; 1924.
14. **Dresel:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. Beiheft 97; 178; 1925.
15. **Engelmann:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 98; 304; 1926.
16. **Ficker:** Handb. der mikrobiologischen Technik v. Kraus u. Uhlenhuth, Bd. 1; 5; 267.
17. **Ficker:** Arch. Hyg. 68; 1; 1909.
18. **Fluegge:** Grundriß der Hygiene, 11. Aufl. v. Reiters & Möllers, 1940.
19. **Fränkel:** Z. Med. Klin. 10; 401; 1886.
20. **Fränkel:** Z. klin. Med. 11; 437; 1886.
21. **Fränkel:** Dtsch. med. Wschr. 13; 209; 1886.
22. **Fränkel:** Münch. med. Wschr. 12; 548; 1905.
23. **Fränkel:** Münch. med. Wschr. 39; 1886; 1905.
24. **Gotschlich:** Handb. der path. Mikroor. 3. Aufl. Bd. 1/I. S. 33.
25. **Grixoni:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Ref. 44; 188; 1909.
26. **Gundel & Schürmann:** Lehrb. der Mikrobiologie u. Immunbiologie, 1939.
27. **Gutmann:** Z. Immun. Forsch. 1. Teil Orig. 15; 625; 1912.
28. **Heim:** Z. Hyg. 50; 139; 1905.
29. **Heim & Schlirf:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 100; 24; 1926.
30. **Hintze:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 99; 419; 1926.
31. **Hintze & Peter:** Münch. med. Wschr. 32; 1011; 1921.
32. **Hirokawa, Waichi:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 53; 12; 1910.
33. **Hiß:** J. of exp. Med. 5; 1905.
34. **Hiß:** Zbl. 1. Abt. Ref. 38; 667; 1906.
35. **Killian:** Klin. Wschr. 45; 2166; 1925.
36. **Killian:** Z. Hyg. 102; 262; 1924.
37. **Killian:** Z. Hyg. 104; 489; 1925.

38. **Koch:** Virchows Arch. 227; 39; 1920.
39. **Kolle & Hetsch:** Die exper. Bakter. u. d. Inf. Krankh. 6. Aufl 1922.
40. **Kruse:** Mikroorganismen v. C. Flügge, 2. Bd. S. 342, 1896.
41. **Kruse & Pansini:** Z. Hyg. 11; 279; 1892.
42. **Levinthal:** Klin. Wschr. 43; 2020; 1926.
43. **Levy:** Virchows Arch. 187; 327; 1907.
44. **Levy:** Z. Immun. Forsch. 43; 196 u. 243; 1925.
45. **Lord, F. T. and Nye, R. N.:** J. of exp. Med. 35; 703; 1922.
46. **Lord, F. T. and Nye, R. N.:** Z. ges. Hyg. 3; 291; 1923.
47. **Mandelbaum:** Münch. med. Wschr. 29; 1431; 1907.
48. **Meyer:** Z. Hyg. 107; 416; 1927.
49. **Morgenroth** und **Kaufmann:** Z. Immun. Forsch. 1. Teil Orig. 15; 610; 1912.
50. **Morgenroth** und **Schnitzer:** Z. Hyg. 103; 441; 1924.
51. **Morgenroth** und **Schnitzer:** Dtsch. med. Wschr. 16; 675; 1925.
52. **Morgenroth, Schnitzer** u. **Berger:** Klin. Wschr. 2; 1633; 1925.
53. **Morgenroth, Schnitzer** u. **Berger:** Z. Immun. Forsch. 43; 169; 1925.
54. **Morgenroth, Schnitzer** u. **Berger:** Z. Immun. Forsch. 43; 209; 1925.
55. **Morgenroth, Schnitzer** u. **Berger:** Dtsch. med. Wschr. 16; 675; 1925.
56. **Nachmann:** Inaugural-Dissertation, Berlin 1915.
57. **Neufeld:** Z. Hyg. 34; 454; 1900.
58. **Neufeld:** Z. Hyg. 40; 54; 1902.
59. **Neufeld:** Zbl. Bakter. 1. Abt., Orig. 93; 41; 1924.
60. **Neufeld:** Klin. Wschr. 39; 1632; 1932. Dtsch. med. Wschr. 1; 1; 1924.
61. **Neufeld** und **Händel:** Handb. der path. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. IV/2. S. 513. 1912.
62. **Neufeld** und **Händel:** Z. Immun. Forsch. 1. Teil Orig. 3; 159; 1909.
63. **Neufeld** und **Händel:** Berl. Klin. Wschr. S. 680; 1912.
64. **Neufeld** und **Händel:** Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 28; S. 581. 1908.
65. **Neufeld** und **Schnitzer:** Handb. d. path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. IV/2, S. 913, 1928.
66. **Norris** and **Papenheimer:** J. of exp. Med. 5; 1905.
67. **Norris** and **Papenheimer:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Ref. 38; 176; 1906.
68. **Pieper:** Z. ges. Hyg. 3; 433 u. 513; 1923.
69. **Rochs:** Virchow Arch. 220; 327; 1915.
70. **Rosenow.** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 73; 284; 1919.
71. **Schereschewsky:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 49; 72; 1909.
72. **Schiemann** und **Casper:** Z. Hyg. 108; 220; 1928.
73. **Schnabel:** Z. Hyg. 93; 175; 1921.
74. **Schnabel** und **Kasarnowsky:** Klin. Wschr. 3; 346; 1924.
75. **Schnitzer** und **Berger:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. Beiheft, 93; 292; 1924.

76. **Schottmülfer:** Münch. med. Wschr. 20; 849; 1902.
77. **Schottmüller:** Münch. med. Wschr. 21; 909; 1903.
78. **Schottmüller:** Münch. med. Wschr. 30; 1425; 1905.
79. **Schottmüller:** Leitfaden f. d. klin. bakt. Kulturmethoden 1923.
80. **Schuhmacher:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 41; 712; 1906.
81. **Seitz:** Klin. Wschr. 48; 2367; 1922.
82. **Singer** und **Adler:** Z. Immun. Forsch. 41; 468; 1924.
83. **Stanka:** Z. Immun. Forsch. 47; 141; 1926.
84. **Stolygvo:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 98; 1; 1926.
85. **Stoye:** Z. Hyg. 103; 97; 1924.
86. **Tani:** Z. Hyg. 103; 204; 1924.
87. **Todd:** Zbl. Bakt. 1. Abt. Ref. 47; 79; 1910.
88. **Tugendreich** und **Russo:** Z. Immun. Forsch. 1. Teil Orig. 19; 156; 1913.
89. **Verderame** und **Weeckers:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Ref. 44; 187; 1909.
90. **Vetrano:** Zbl. Bakter. 1. Abt. Orig. 52; 275; 1909.
91. **Wámoscher:** Z. Hyg. 106; 421; 1926.
92. **Wámoscher:** Z. Hyg. 107; 240; 1927.
93. **Weichselbaum:** Handb. d. path. Mikroorg. 1. Aufl. Bd. III und IV, 1909.
94. **Wirth:** Zbl. Bakt. 1. Abt. Orig. 102; 40; 1927.
95. **Wirth:** Zbl. Bakt. 99; 266 u. 438; 1926.
96. **Wolff:** Virchows Arch. 244; 97; 1923.
97. **Wood, Francis; Carter:** J. of. exp. Med. 5; 592; 1905.
98. **Yoshioka:** Z. Hyg. 96; 520; 1922
99. **Yoshioka:** Z. Hyg. 97; 252; 386 u. 408; 1923.
100. **Yoshioka:** Z. Hyg. 99; 193; 1923.

Lebenslauf.

Am 12. Februar 1917 wurde ich als Sohn des Kreisvollziehungsbeamten Josef Oster und seiner Ehefrau Maria Elisabeth, geb. Thomas, in Höchst am Main geboren. Nach vierjährigem Besuch der dortigen Volksschule besuchte ich zunächst die Oberrealschule in Ffm.-Höchst und dann die staatlich anerkannte Private Oberrealschule mit Heim in Illertissen an der Iller. Im Februar 1937 legte ich an der Rupprecht-Oberrealschule in München die Reifeprüfung als Externer ab. Nachdem ich meiner Arbeitsdienstpflicht genügt hatte, begann ich an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt am Main das Medizinstudium. Nach Fortsetzung meiner Studien in Leipzig und Gießen legte ich nach dem Wintersemester 1941/42 die ärztliche Prüfung in Frankfurt am Main ab. Im Dezember 1939 wurde ich vorübergehend zur Wehrmacht eingezogen und einer Feldeinheit zugeteilt.

Für die Ueberlassung des Themas, sowie die freundlichen Hinweise und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit, spreche ich Herrn Dozent Dr. med. habil B. Kemkes meinen besten Dank aus.